藏药多刺绿绒蒿种子萌发特性研究

袁　芳[1,2]，宋凯杰[1]，蔡熙彤[1]，兰小中[1,2*]

（1. 西藏农牧学院，西藏　林芝　860000；2. 西藏农牧学院-西南大学药用植物联合研发中心，西藏　林芝　860000）

摘　要：多刺绿绒蒿（*Meconopsis horridula*）为罂粟科绿绒蒿属一年生草本植物，是一种极具观赏价值和药用价值的高山植物，目前处于濒危状态。研究多刺绿绒蒿种子的萌发特性对其种子育苗及人工栽培具有重要意义。该研究以多刺绿绒蒿的种子为材料，研究不同消毒剂、浸种时间、温度和外源植物激素对种子萌发特性的影响。结果表明：（1）最适消毒方法为 75%乙醇 1 min + 3% H_2O_2 5 min，最适浸种时间为 24 h，最适温度和光照条件为 20 ℃/10 ℃（光照 12 h/黑暗 12 h），用无菌水浸种后的种子发芽率为 49.67%。（2）GA_3 100 ~ 600 mg • L^{-1} 和 NAA 5 ~ 30 mg • L^{-1} 可以提高种子的发芽率、发芽势和发芽指数，缩短发芽启动时间和发芽持续时间，对种子的萌发有促进作用。（3）6-BA 5 mg • L^{-1} 和 10 mg • L^{-1} 对种子的萌发有一定的促进作用，但不显著，6-BA 浓度≥15 mg • L^{-1} 则抑制种子的萌发。（4）用 GA_3 500 mg • L^{-1} 浸种后的种子发芽指标最好，发芽率、发芽势和发芽指数分别为 69.67%、33.00%、4.51，种子的发芽起始时间和发芽持续时间分别为 10.67 d、11.67 d。

关键词：多刺绿绒蒿，种子，萌发，消毒剂，浸种时间，温度，外源植物激素

中图分类号：Q945.35；R282.2　　　　　文献标志码：A

DOI：10.11931/guihaia.gxzw201810036

Seed germination characteristics of Tibetan medicine *Meconopsis horridula* Hook. f. et Thoms.

YUAN Fang[1,2], SONG Kaijie[1], CAI Xitong[1], LAN Xiaozhong[1,2*]

（1. *Tibet Agriculture and Animal Husbandry University*, Nyingchi 860000, Tibet, China; 2. *Tibet Agriculture and Animal Husbandry University-Southwest University*, *Medicinal Plants Joint Research and Development Centre*, Nyingchi 860000, Tibet, China）

Abstract: *Meconopsis horridula* Hook. f. et Thoms. is an endangered annual herb belonging to family Papaveraceae. *M. horridula* is a rare alpine flower, and is a kind of traditional Tibetan medicine. In order to provide a scientific basis for the seed breeding and artificial cultivation of *M. horridula*, the germination characteristics of seeds were studied under the different conditions of disinfector, soaking time, temperature and exogenous plant hormone. The results were as follows: (1) The optimum conditions of seed disinfection method, soaking time, temperature and illumination were 75% ethanol 1 min + 3% H_2O_2 5 min, 24 h and 20 ℃/10 ℃ (illumination 12 h/darkness 12 h), respectively, and the germination rate of disinfected seeds after soaked in sterile

基金项目：西藏自治区高校青年教师创新支持计划项目（QCZ2016-54）；第四次全国中药资源普查西藏自治区（中）藏药资源普查项目（20180611-542226）[Supported by the Innovation Support Program for University Young Teachers of Tibet Autonomous Region（QCZ2016-54）；Project of the Fourth National Survey of Traditional Chinese Medicine Resources in Tibet Autonomous Region（20180611-542226）]。

作者简介：袁芳（1983-），女，甘肃庆阳人，硕士，讲师，从事药用植物资源与开发利用研究，（E-mail）396531633@qq.com。

***通信作者：**兰小中，博士，教授，从事药用植物资源与开发利用研究，（E-mail）lanxiaozhong@163.com。

water 24 h was 49.67%. (2) GA_3 100 ~ 600 mg • L^{-1} and NAA 5 ~ 30 mg • L^{-1} both had effects on promotion the germination of seeds, mainly by improving seed germination rate, germination potential and germination index, and shortening germination start time and germination duration. (3) 6-BA 5 mg • L^{-1} and 10 mg • L^{-1} both could promote the germination of seeds, but it were not significant, and when the 6-BA concentration higher than 15 mg • L^{-1}, the germination of seeds were inhibited. (4) The germination data of *M. horridula* seeds soaked with GA_3 500 mg •L^{-1} were the best. The germination rate, germination energy and germination index of seeds were 69.67%, 33.00% and 4.51, respectively, and the germination time lag and germination time of seeds were 10.67 d and 11.67 d, respectively.

Key words: *Meconopsis horridula* Hook. f. et Thoms., seed, germination, antiseptic, soaking time, temperature, exogenous plant hormone

绿绒蒿属（*Meconopsis* Vig.）是罂粟科绿绒蒿属植物的总称，全世界共有 54 种，中国有 43 种。本属植物共有 18 种入药，其中，多刺绿绒蒿（*Meconopsis horridula* ）是本属最具代表性的常用藏药材（赵凤等，2017）。多刺绿绒蒿为一年生草本植物，生长于海拔 3 600～5 100 m 的草坡或石坡上，在中国主要分布于西藏（广泛分布）、甘肃西部、青海东部至南部、四川西部（中国植物志编委会，1999）。多刺绿绒蒿是享誉海内外的珍稀高山花卉，被称作“喜马拉雅蓝罂粟”，以全草或地上部分入药，藏语名为“刺尔恩”（赵凤等，2017）。《晶珠本草》中记载，“刺尔恩”味苦，功效清热，具有接骨、活血化瘀、止痛的作用，为治头创伤最有疗效之药，藏医多用于治疗头伤、骨折、跌打损伤等，临床上多以复方形式入药（帝玛尔 丹增彭措，2012；中国科学院西北高原生物研究所，1991）。《中华人民共和国卫生部药品标准》收载了十余种含有多刺绿绒蒿的藏药成方制剂（中华人民共和国卫生部药典委员会，1995）。目前，已从多刺绿绒蒿中分离得到生物碱类、黄酮类、萜类、甾体类等化合物，现代药理学研究多围绕抗癌、抗病毒、心脏保护等方面（赵凤等，2017；Guo et al.，2016；Fan et al.，2015）。

多刺绿绒蒿的生境特殊，储量有限，加之引种驯化困难，商品多刺绿绒蒿主要以野生为主，导致其野生资源急剧减少。在 2005 年，多刺绿绒蒿被列为西藏自治区III级濒危藏药材。卢杰等根据西藏自治区（中）藏药资源的调查数据，建议将其列入I级濒危藏药材名录（卢杰等，2011；卢杰和兰小中，2013a，2013b）。保护绿绒蒿野生资源并解决市场资源紧缺问题，最重要的是发展人工栽培（索南仁欠，2017）。种子繁殖方式既能保证后代种群的遗传多样性，又能增强幼苗的抗逆性和生长潜力，是植物人工栽培最易成功的一种繁殖方式（屈燕和区智，2012）。对于长年生长于高寒山区，生态幅度较小的绿绒篙引种时，以种子进行繁殖比移植效果更好（董晓东等，1995）。

多刺绿绒蒿种子休眠为 PY+PD（物理休眠和生理休眠）型复合休眠，且自然状态下发芽率低，给人工栽培带来了一定的困难（达清璟等，2018），所以打破休眠提高种子发芽率，是开展多刺绿绒蒿人工栽培的首要任务，但是目前有关此方面的研究报道甚少。因此，本试验以多刺绿绒蒿种子为试材，运用发芽试验方法，探讨不同消毒剂、不同浸种时间与萌发温度及外源植物激素对多刺绿绒蒿种子萌发的影响，以期提高多刺绿绒蒿种子发芽率，为这一珍贵观赏与药用植物资源的保护、栽培和引种驯化等提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

多刺绿绒蒿种子于 2015 年 9 月采自西藏自治区那曲市嘉黎县。种子自然干燥后于 4 ℃低温贮藏 6 个月。种子千粒重为（0.096 2±0.008 5）g。

1.2 试验方法

1.2.1 种子消毒处理　种子用流水冲洗 10 min，然后转入超净工作台进行消毒处理。种子先用 75%乙醇消毒 1 min，无菌水冲洗 3 次，再分别用 0.1% $HgCl_2$、2% NaClO 和 3% H_2O_2 消毒 5 min 或 10 min，无菌水冲洗 3 次。接种前，用无菌水浸泡种子 12 h。共 6 个消毒处理，每个处理设 3 次重复，每个重复 1 个培养皿，每个培养皿接种 100 粒种子，在培养箱中于 20 ℃、12 h 光照/12 h 黑暗交替下培养。

1.2.2 浸种时间与萌发温度处理　浸种时间设置为不浸种、浸种 12 h、18 h 和 24 h 共 4 个处理。参考西藏

自治区气温变化资料（杜军等，2016；杨春艳等，2014），萌发温度设置为 15 ℃、20 ℃、20 ℃/10 ℃（光照/黑暗）、25 ℃和 25 ℃/15 ℃（光照/黑暗）共 5 个处理。光照条件为 12 h 光照/12 h 黑暗交替。根据 1.2.1 的试验结果，种子用最适消毒方法（75%乙醇 1 min + 3% H_2O_2 5 min）消毒后，用无菌水经不同时间的浸种，然后将种子置于设置有不同萌发温度的培养箱中培养。每个处理设 3 次重复，每个重复 1 个培养皿，每个培养皿接种 100 粒种子。

1.2.3 外源植物激素处理　根据本课题组前期研究，选用赤霉素（GA_3）、6-苄氨基腺嘌呤（6-BA）和萘乙酸（NAA）3 种植物激素，质量浓度分别设置为 GA_3 100、200、300、400、500、600 mg • L^{-1}，6-BA 5、10、15、20、25、30 mg • L^{-1}，NAA 5、10、15、20、25、30 mg • L^{-1}。经过消毒处理的种子，用无菌水（对照）和不同质量浓度的 GA_3、6-BA、NAA 分别浸种 24 h 后，无菌水冲洗 3 次。每个处理设 3 次重复，每个重复 1 个培养皿，每个培养皿接种 100 粒种子。在培养箱中 20 ℃/10 ℃（光照/黑暗）、12 h 光照/12 h 黑暗交替下培养。浸种时间 24 h 与萌发温度 20 ℃/10 ℃从 1.2.2 的试验结果获得。

上述处理中使用的不同消毒剂和植物激素均用无菌水配制，植物激素母液经抽滤灭菌。采用培养皿纸床发芽法，将两层 PhytoTC 种子萌发纸（购自北京启维益成科技有限公司）铺在培养皿中高温高压灭菌后，将培养皿内的萌发纸用无菌水浸湿，种子均匀撒播在萌发纸上，并用 Parafilm 封口膜进行封口。

1.2.4 测定指标与计算　以胚根露出种孔 2 mm 为种子的萌发标志。从处理当天开始，每 24 h 记录每皿中萌发的种子数，并移出已萌发的种子，连续 7 d 对照组和试验组的种子萌发数不变时视为种子萌发进程结束。统计种子的污染率、发芽启动时间、发芽持续时间、发芽率、发芽势及发芽指数（郑道君等，2017；郭秋菊等，2018）。（1）污染率＝污染种子数 / 供试种子总数×100%；（2）发芽启动时间，即萌发时滞，指从萌发试验开始到第 1 粒种子开始萌发所持续的天数；（3）发芽持续时间，即种子开始萌发到最后 1 粒种子萌发的总天数。（4）发芽率＝种子发芽总数 / 供试种子总数×100%；（5）发芽势＝日发芽种子最大时的发芽种子数 / 供试种子总数×100%；（6）发芽指数＝$\sum(G_t / D_t)$，其中 G_t 为 t 日内的发芽数，D_t 为相应的发芽日数。

1.3 数据处理

试验数据采用 Excel 2010 进行整理和作图，SPSS 19.0 进行差异显著性分析（P<0.05）。

2 结果与分析

2.1 不同消毒处理对多刺绿绒蒿种子消毒效果和萌发的影响

种子病虫害直接影响种子发芽率。由表 1 可知，不同消毒处理对多刺绿绒蒿种子的消毒效果和萌发有显著影响。75%乙醇 1 min + 0.1% $HgCl_2$ 5 min、75%乙醇 1 min + 0.1% $HgCl_2$ 10 min 和 75%乙醇 1 min + 2% NaClO 10 min 等 3 个处理的种子污染率均为 0，其余 3 个处理的种子带菌，但污染率均低于 7%。0.1% $HgCl_2$ 的消毒效果最好，其次为 2% NaClO，3% H_2O_2 的消毒效果较差。但是从种子的萌发情况来看，0.1% $HgCl_2$ 对种子萌发的抑制作用最大，种子萌发率低于 4%；其次为 2% NaClO；3% H_2O_2 对种子萌发的抑制作用最小。75%乙醇 1 min + 3% H_2O_2 5 min 消毒处理的种子，虽然污染率为 6.67 %，但是种子萌发最快（13.33 d），发芽持续时间较短（13.67 d），发芽率最高（26.67%）。

表 1 不同消毒处理对多刺绿绒蒿种子萌发的影响

Table 1　Effects of different disinfection treatments on germination of *M. horridula* seeds

种子消毒的程序与时间 Procedure and time of seed disinfection（min）				污染率 Contamination rate（%）	发芽启动时间 Germination time lag（d）	发芽持续时间 Germination time（d）	发芽率 Germination rate（%）
75% Ethanol	0.1% $HgCl_2$	2% NaClO	3% H_2O_2				
1	5	0	0	0.00 d	26.33 ±0.94 b	19.00 ±0.82 b	3.67 ±0.94 e
1	10	0	0	0.00 d	33.33 ±1.25 a	20.67 ±0.47 a	1.33 ±1.25 e
1	0	5	0	4.33 ±0.47 b	17.00 ±0.82 d	16.67 ±1.25 c	16.33 ±1.25 c
1	0	10	0	0.00 d	20.67 ±1.25 c	17.33 ±1.25 c	12.33 ±1.25 d
1	0	0	5	6.67 ±0.47 a	13.33 ±0.47 e	13.67 ±1.25 d	26.67 ±0.94 a
1	0	0	10	1.67 ±0.94 c	15.00 ±0.82 e	12.67 ±0.94 e	21.00 ±0.82 b

注：不同小写字母表示处理间在 0.05 水平上差异显著；下同。

Note：Different lowercases indicate significant differences at 0.05 level. The same below.

2.2 不同浸种时间与萌发温度对多刺绿绒蒿种子发芽率的影响

由图 1 可知，多刺绿绒蒿种子在不同浸种时间与萌发温度的交互作用下，发芽率呈现出不同的变化趋势。在 15 ℃和 25 ℃时，随着浸种时间的延长，发芽率呈现先升高后降低的趋势。在 20 ℃、20 ℃/10 ℃和 25 ℃/15 ℃时，随着浸种时间的延长，发芽率逐渐升高，且在相同温度条件下，浸种 18 h 和 24 h 的发芽率显著高于不浸种和浸种 12 h 的发芽率。在同一浸种时间下，变温处理的发芽率显著高于恒温处理，在 20 ℃/10 ℃时，浸种 18 h 的发芽率为 46.00%，24 h 的发芽率为 49.67%。综上所述，在浸种 24 h、萌发温度为 20 ℃/10 ℃的条件下多刺绿绒蒿的种子发芽率最高，并将该条件作为不同浓度 GA_3、6-BA 和 NAA 处理种子的试验条件。

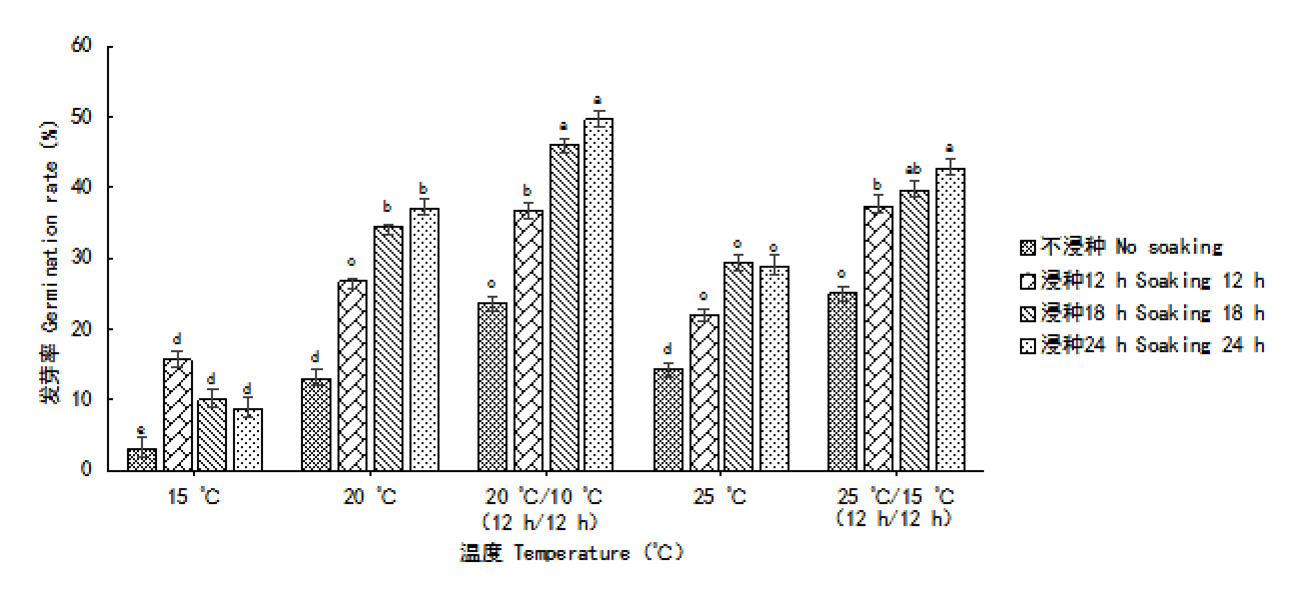


图 1 不同浸种时间与萌发温度处理下多刺绿绒蒿种子的发芽率

Fig. 1 The germination rate of *M. horridula* seeds treated with different soaking time and germination temperature

2.3 不同浓度外源植物激素对多刺绿绒蒿种子萌发的影响

2.3.1 不同浓度 GA_3 对多刺绿绒蒿种子萌发的影响

由表 2 可知，不同浓度 GA_3 显著地提高了种子发芽率，处理后的发芽率为 51.33% ~ 69.67%，而对照（GA_3 0 mg • L^{-1}）的发芽率为 48.00%。其中，500 mg • L^{-1} 处理下发芽率最高，比对照高 21.67%；其次为 600 mg • L^{-1}，发芽率比对照高 19.33%；500 mg • L^{-1} 与 600 mg • L^{-1} 处理间无显著差异。同时，GA_3 处理也提高了发芽势和发芽指数，各处理之间有明显差异。发芽势和发芽指数随着 GA_3 浓度的增大而逐渐升高，在 500 mg • L^{-1} 处理下达到峰值，分别比对照高 27.00%和 2.17。当 GA_3 浓度为 600 mg • L^{-1} 时，发芽势和发芽指数有所降低。另外，GA_3 100 ~ 400 mg • L^{-1} 对缩短发芽启动时间和发芽持续时间的作用不明显。GA_3 500 mg • L^{-1} 极显著地缩短了种子发芽启动时间和持续时间，比对照提前 3 d 萌发，从萌发开始到结束持续 11.67 d，比对照缩短 3.66 d。当 GA_3 浓度为 600 mg • L^{-1} 时，发芽启动时间和持续时间呈增加趋势。综上所述，在试验设定的不同浓度 GA_3 处理中，用 500 mg • L^{-1} 浸种最好。

表 2 不同浓度 GA_3 对多刺绿绒蒿种子萌发的影响

Table 2 Effects of different concentrations of GA_3 on germination of *M. horridula* seeds

GA_3 质量浓度 GA_3 concentration（mg • L^{-1}）	发芽启动时间 Germination time lag（d）	发芽持续时间 Germination time（d）	发芽率 Germination rate（%）	发芽势 Germination energy（%）	发芽指数 Germination index
0	13.67 ±0.94 ab	15.33 ±0.47 b	48.00 ±1.41 e	6.00 ±2.45 e	2.34 ±0.09 e
100	14.00 ±0.82 a	15.33 ±0.94 b	51.33 ±0.94 d	11.00 ±2.94 d	2.52 ±0.05 e
200	13.67 ±1.25 ab	16.00 ±0.82 a	52.33 ±0.47 d	14.33 ±2.87 d	2.66 ±0.09 e
300	13.33 ±0.47 b	14.67 ±1.25 c	58.00 ±0.82 c	19.67 ±0.47 c	2.96 ±0.09 d
400	13.33 ±1.25 b	14.33 ±0.94 c	63.00 ±0.00 b	25.33 ±2.87 b	3.34 ±0.13 c
500	10.67 ±0.94 d	11.67 ±0.47 e	69.67 ±0.47 a	33.00 ±2.16 a	4.51 ±0.07 a

600	11.33 ±0.47 c	12.33 ±0.94 d	67.33 ±1.25 a	31.33 ±3.09 a	4.17 ±0.16 b

2.3.2 不同浓度 6-BA 对多刺绿绒蒿种子萌发的影响

由表 3 可知，不同浓度 6-BA 对多刺绿绒蒿种子的萌发有着不同的影响。发芽启动时间随着 6-BA 浓度的增大而逐渐延长，在 5 mg • L^{-1} 处理下发芽启动时间比对照延长 0.33 d，在 30 mg • L^{-1} 处理下发芽启动时间比对照延长 11.33 d。发芽持续时间则随着 6-BA 浓度的增大而逐渐缩短，在 30 mg • L^{-1} 处理下，从种子萌发开始到结束持续 5.33 d，比对照缩短 10 d。随着浓度的增大，发芽率、发芽势和发芽指数呈先升高后降低的趋势。当 6-BA 的浓度为 5 mg • L^{-1} 和 10 mg • L^{-1} 时，发芽率、发芽势和发芽指数均高于对照，但发芽率和发芽指数与对照无显著差异。其中，5 mg • L^{-1} 处理下，发芽率、发芽势和发芽指数最高，分别比对照高 6.67%、1.00%和 0.39。当 6-BA 浓度≥15 mg • L^{-1} 时，则对种子萌发表现为一定的抑制作用，且质量浓度越高抑制作用越明显。综上所述，在试验设定的不同浓度的 6-BA 处理中，用 5 mg • L^{-1} 浸种最好。

表 3　不同浓度 6-BA 对多刺绿绒蒿种子萌发的影响

Table 3　Effects of different concentrations of 6-BA on germination of *M. horridula* seeds

6-BA 质量浓度 6-BA concentration（mg • L^{-1}）	发芽启动时间 Germination time lag（d）	发芽持续时间 Germination time（d）	发芽率 Germination rate（%）	发芽势 Germination energy（%）	发芽指数 Germination index
0	13.67 ±0.94 d	15.33 ±0.47 a	48.00 ±1.41 a	6.00 ±2.45 b	2.34 ±0.09 bc
5	14.00 ±0.82 d	13.67 ±0.47 c	54.67 ±1.25 a	7.00 ±0.82 a	2.73 ±0.19 a
10	14.00 ±1.41 d	14.33 ±1.25 bc	51.00 ±1.63 a	6.67 ±1.70 a	2.53 ±0.24 ab
15	14.33 ±0.47 d	14.67 ±1.25 ab	45.33 ±1.89 a	5.00 ±0.82 c	2.07 ±0.23 c
20	16.33 ±1.70 c	11.00 ±1.41 d	28.00 ±2.83 b	3.00 ±0.82 d	1.15 ±0.05 d
25	22.67 ±2.05 b	7.00 ±1.63 e	15.00 ±2.45 c	2.67 ±0.47 d	0.57 ±0.08 e
30	25.00 ±0.82 a	5.33 ±1.25 f	5.33 ±1.25 d	2.00 ±0.00 e	0.20 ±0.05 f

2.3.3 不同浓度 NAA 对多刺绿绒蒿种子萌发的影响

由表 4 可知，一定质量浓度的 NAA 可以提高多刺绿绒蒿种子的发芽率、发芽势、发芽指数，缩短种子发芽启动时间和发芽持续时间。NAA 20、25 mg • L^{-1} 处理下种子发芽率、发芽势、发芽指数显著高于对照（NAA 0 mg • L^{-1}）。20 mg • L^{-1} 处理下种子发芽势（21.00%）和发芽指数（3.16）最高，分别比对照高 15%和 0.82。25 mg • L^{-1} 处理下发芽率（61.67%）最高，分别比对照和 20 mg • L^{-1} 处理高 13.67%和 2.00%，但是发芽势和发芽指数比 20 mg • L^{-1} 处理降低了 1.67%和 0.25。另外，25 mg • L^{-1} 处理下，种子萌发最快，比对照提前 2.67 d 萌发，发芽持续时间比对照缩短 5.33 d。当浓度为 30 mg • L^{-1} 时，发芽率、发芽势、发芽指数显著降低，且发芽指数低于对照。综上所述，在试验设定的不同浓度的 NAA 处理中，用 25 mg • L^{-1} 浸种最好。

表 4　不同浓度 NAA 对多刺绿绒蒿种子萌发的影响

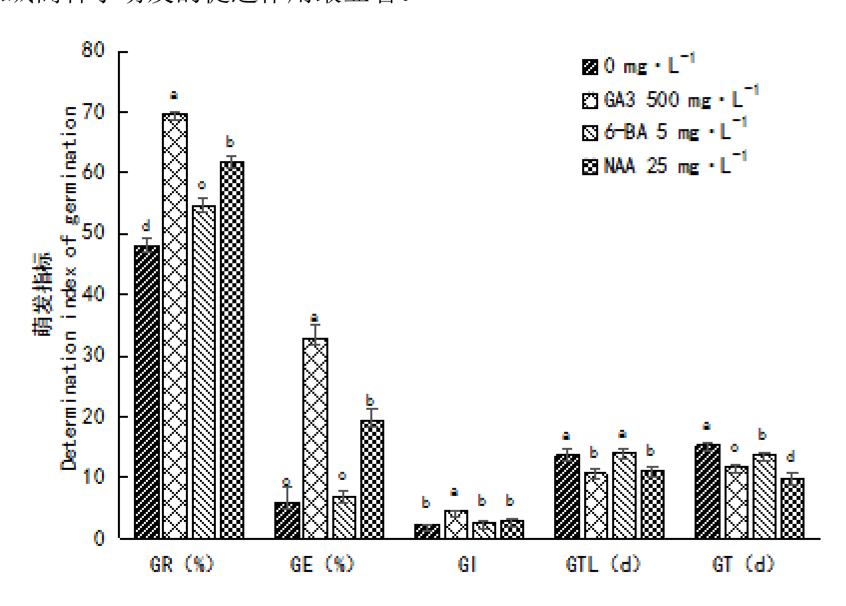
Table 4　Effects of different concentrations of NAA on germination of *M. horridula* seeds

NAA 质量浓度 NAA concentration（mg • L^{-1}）	发芽启动时间 Germination time lag（d）	发芽持续时间 Germination time（d）	发芽率 Germination rate（%）	发芽势 Germination energy（%）	发芽指数 Germination index
0	13.67 ±0.94 a	15.33 ±0.47 a	48.00 ±1.41 de	6.00 ±2.45 c	2.34 ±0.09 d
5	13.67 ±0.94 a	15.00 ±0.82 a	49.00 ±0.00 d	8.67 ±0.94 b	2.40 ±0.03 d
10	13.67 ±0.47 a	15.00 ±0.82 a	49.33 ±0.47 d	8.67 ±0.47 b	2.50 ±0.09 d
15	12.33 ±0.47 b	14.67 ±0.47 a	54.67 ±1.25 c	11.33 ±0.94 b	2.72 ±0.27 c
20	12.00 ±0.82 b	13.33 ±0.47 b	59.67 ±0.94 b	21.00 ±2.16 a	3.16 ±0.34 a
25	11.00 ±0.82 c	10.00 ±0.82 d	61.67 ±0.94 a	19.33 ±1.89 a	2.91 ±0.38 b
30	12.67 ±0.47 b	11.67 ±0.47 c	54.33 ±0.47 c	10.33 ±0.47 b	2.27 ±0.35 de

2.3.4 GA_3、6-BA 和 NAA 最优处理的比较分析

对 2.3.1 ~ 2.3.3 分析中 GA_3、6-BA 和 NAA 的最优处理进行比较分析的结果见图 2。由图 2 可知，在发芽率方面，GA_3 500 mg • L^{-1}、6-BA 5 mg • L^{-1} 和 NAA 25 mg • L^{-1} 处理下种子发芽率与对照差异显著，发

芽率均高于对照；其中 GA_3 500 mg • L^{-1} 处理的种子发芽率最高，为 69.67%，比对照高 21.67%。在发芽势方面，3 种试剂最优处理下种子发芽势均高于对照；GA_3 500 mg • L^{-1} 处理的种子发芽势最高，为 33.00%，比对照高 27.00%，其次为 NAA 25 mg • L^{-1} 处理下种子发芽势比对照高 13.33%；6-BA 5 mg • L^{-1} 处理下种子发芽势与对照无显著差异。在发芽指数方面，除了 GA_3 500 mg • L^{-1} 处理外，其他处理的发芽指数与对照均无显著差异。在发芽启动时间方面，除了 6-BA 5 mg • L^{-1} 处理的种子发芽启动时间与对照无显著差异外，其他处理均可缩短发芽启动时间，促进种子提前萌发；其中，GA_3 500 mg • L^{-1} 处理的种子发芽最快，比对照提前 3 d 萌发。在发芽持续时间方面，3 种试剂最优处理下种子发芽持续时间与对照差异显著，发芽持续时间均低于对照；其中 NAA 25 mg • L^{-1} 处理的种子 10 d 左右萌发结束，比对照缩短 5.33 d；但是，NAA 25 mg • L^{-1} 处理下种子发芽率、发芽势和发芽指数均低于 GA_3 500 mg • L^{-1} 处理。综上所述，GA_3 500 mg • L^{-1} 对多刺绿绒蒿种子萌发的促进作用最显著。



注：GR 为发芽率，GE 为发芽势，GI 为发芽指数，GTL 为发芽启动时间，GT 为发芽持续时间。

Note：GR, GE, GI, GTL and GT were for germination rate, germination energy, germination index, germination time lag and germination time, respectively.

图 2　GA_3 500 mg • L^{-1}、6-BA 5 mg • L^{-1} 和 NAA 25 mg • L^{-1} 处理对多刺绿绒蒿种子萌发的影响

Fig. 2　Effects of GA_3 500 mg • L^{-1}、6-BA 5 mg • L^{-1} and NAA 25 mg • L^{-1} on germination of *M. horridula* seeds

3 讨论与结论

多刺绿绒蒿是一种极具观赏价值和药用价值的高山植物，提高其种子发芽率将有利于引种驯化工作的进一步开展。影响种子萌发的因素有很多，包括外部生态因素和内部生理因素，对不同植物来说，影响种子萌发的主要因子也有差异（徐恒恒等，2014；屈燕和区智，2012）。

种子萌发容易受到病害的影响，许多病害都是由带菌种子引起的。本课题组在预试验中发现不进行消毒处理的多刺绿绒蒿种子，其带菌率为 53.00%，发芽率仅为 9.67%，且幼苗的长势差。在本试验中，采用 75%乙醇 1 min + 3% H_2O_2 5 min 的方法对种子消毒，消毒效果较好，种子发芽率提高到 26.67%，说明多刺绿绒蒿种子病害对种子的萌发具有一定的抑制作用，通过适当的消毒处理可提高种子的发芽率。另外，与 0.1% $HgCl_2$ 和 2% NaClO 相比较，3% H_2O_2 在达到消毒效果的同时，还具有促进多刺绿绒蒿种子萌发的作用，可能是由于适当浓度的 H_2O_2 可轻度腐蚀种皮，提高种皮的通透性，为种子提供充足的氧气而解除休眠（何士敏等，2008）。H_2O_2 在促进种子萌发方面的另一个作用是刺激对解除种子休眠有重要作用的一条胚乳物质代谢途径——磷酸戊糖途径（徐是雄等，1987）。

种子萌发起始于水分吸胀（徐恒恒等，2014）。在种子萌发特性研究中，浸种是比较常用的破除休眠的物理方法。屈燕等（2018）研究了清水浸种不同时间对总状绿绒蒿种子萌发的影响，结果显示，浸种 24 ~ 36 h，均可增加种子发芽率和发芽势。达清璟等（2018）的研究显示，多刺绿绒蒿种子在浸种 18 h 后达到最大吸水率 97.80%，浸种 20 h 后吸水达到饱和，并趋于动态平衡。在本试验中，在适宜的温度条件下，分别浸种 12 h、18 h 和 24 h 均可显著提高多刺绿绒蒿种子的发芽率，虽然浸种 18 h 和 24 h 的发芽率无显

著差异，但是浸种 24 h 的发芽率最高（49.67%），说明种皮对种子的萌发不造成透性障碍，这与达清璟等（2018）的研究结果一致。

温度也是影响种子萌发的重要因子。本试验研究了 3 个恒温条件（15 ℃、20 ℃、25 ℃）和 2 个变温条件（20 ℃/10 ℃、25 ℃/15 ℃）对多刺绿绒蒿种子发芽率的影响，结果表明 20 ℃/10 ℃变温处理更有利于多刺绿绒蒿种子的萌发，原因是多刺绿绒蒿生长在海拔 3 600 ~ 5 100 m 的地区，高海拔地区气温低，昼夜温差大，本试验设置的 20 ℃/10 ℃温度条件比较符合西藏高海拔地区春季气温的变化规律。

外源激素法是揭示种子休眠和萌发的激素调控机理的重要研究方法，已被广泛应用于种子萌发特性研究（徐恒恒等，2014）。屈燕等（2018）将总状绿绒蒿的种子用 GA_3 250 mg • L^{-1} 和 NAA 10 mg • L^{-1} 浸种 24 ~ 36 h 后，均能达到较好的萌发效果；而 6-BA 处理抑制总状绿绒蒿种子的萌发。在本试验中，GA_3 500 mg • L^{-1} 在打破多刺绿绒蒿种子休眠促进其萌发方面效果显著，其次为 NAA 25 mg • L^{-1} 处理；低浓度 6-BA（＜15 mg • L^{-1}）虽然能够促进多刺绿绒蒿种子的萌发，但影响不显著，高浓度 6-BA（≥15 mg • L^{-1}）则会抑制多刺绿绒蒿种子的萌发，这与屈燕等（2018）对总状绿绒蒿进行的相关研究结果相似。

综合消毒剂、浸种时间、温度和外源植物激素对多刺绿绒蒿种子萌发特性的影响，得出多刺绿绒蒿种子经 75%乙醇 1 min + 3% H_2O_2 5 min 消毒后，用 GA_3 500 mg • L^{-1} 浸种 24 h，在 20 ℃/10 ℃（光照 12 h/黑暗 12 h）条件下，种子萌发最快，发芽率和发芽整齐度最高。由于本研究只比较了 3 种外源植物激素对多刺绿绒蒿种子萌发时期的影响，这 3 种外源植物激素对幼苗生长有何影响及是否存在能更好的促进多刺绿绒蒿种子萌发的其他外源植物激素还有待进一步研究。

参考文献：

China Flora Editorial Board, 1999. Flora of China: (32)[M]. Beijing: Science Press: 7, 46. [中国植物志编委会，1999. 中国植物志：(32)[M]. 北京：科学出版社：7，46.]

Chinese Pharmacopoeia Commission, 1995. Drug standard of ministry of public health of the people's republic of China: Tibetan medicine Book 1[S]. Beijing: Ministry of Health of the People's Republic of China. [中华人民共和国卫生部药典委员会，1995. 中华人民共和国卫生部药品标准：藏药 • 第一册[S]. 北京：中华人民共和国卫生部.]

DA QJ, CHEN XL, GUAN XJ, et al.，2018. Seed dormancy and relieved methods of *Meconopsis horridula* Hook.[J]. Bull Biol, 53(4): 51-56. [达清璟，陈学林，管熊娟，等，2018. 多刺绿绒蒿种子休眠及破除方法[J]. 生物学通报，53(4)：51-56.]

DA QJ, CHEN XL, ZHANG QW, et al.，2018. Seed dormancy and relieved methods of *Meconopsis racemosa*[J]. Chin Med Mat, 41(4): 800-805. [达清璟，陈学林，张庆雯，等，2018. 总状绿绒蒿种子休眠及破除方法[J]. 中药材，41(4)：800-805.]

DIMAER DZPC, 2012. Jing zhu materia medica: Part 2[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers: 118. [帝玛尔 • 丹增彭措，2012. 晶珠本草：下部[M]. 上海：上海科学技术出版社：118.]

DONG XD, ZHAO H, MA YX, 1995. Germplasm resources and evaluation of *Meconopsis* plants in Yunnan province[J]. J Dali Teac Coll (Nat Sci Ed), (1): 42-46. [董晓东，赵宏，马玉心，1995. 云南绿绒蒿植物种质资源及评价[J]. 大理师专学报(自然科学版)，(1)：42-46.]

DU J, MA PF, PANDUO, 2016. Spatial-temporal change of air temperature at 02, 08, 14 and 20 Bejing time over Tibet during 1981-2014[J]. Acta Geogr Sin, 71(3): 422-432. [杜军，马鹏飞，潘多，2016. 1981-2014 年西藏各时次气温的变化趋势分析[J]. 地理学报，71(3)：422-432.]

FAN JP, WANG YQ, WANG XB, et al.，2015. The antitumor activity of *Meconopsis horridula* Hook, a traditional tibetan medical plant, in murine leukemia L1210 cells[J]. Cell Physiol Biochem, 37(3): 1055-1065.

GUO Q, BAI R, ZHAO B, et al.，2016. An ethnopharmacological，phytochemical and pharmacological review of the genus *Meconopsis*[J]. Am J Chin Med, 44 (3): 439-462.

GUO QJ, WANG ZM, DENG ZZ, 2018. Influences of different sodium selenite concentrations on seed germination of *Metasequoia glyptostroboides*[J]. Guihaia, 38(10): 1319-1325. [郭秋菊，王志鸣，邓桢珍，2018. 不同浓度亚硒酸钠溶液对水杉种子萌发的影响[J]. 广西植物，38(10)：1319-1325.]

HE SM, WANG JH, BAI ZM, et al.，2008. Effect of H_2O_2 seed soaking on physiological and biochemical characters of soybean germinating[J]. Soyb Sci, 27(1): 176-180. [何士敏，汪建华，白珍明，等，2008. 过氧化氢浸种对大豆种子萌发的生理生化效应[J]. 大豆科学，27(1)：176-180.]

LU J, LAN XZ, 2013a. An investigation on rare and endangered Tibetan medicinal plants in Lhasa region[J]. Chin J Chin Mater Med, 38 (1): 127-132. [卢杰，兰小中，2013a. 拉萨市珍稀濒危藏药植物资源调查研究[J]. 中国中药杂志，38 (1)：127-132.]

LU J, LAN XZ, 2013b. The characteristics of the rare and endangered Tibetan medicinal plant resources in Shannan region[J]. J Nat Resour, 28 (11): 1977-1987. [卢杰，兰小中，2013b. 山南地区珍稀濒危藏药植物资源特征[J]. 自然资源学报，28 (11)：1977-1987.]

LU J, LAN XZ, LUO J, 2011. Investigation and evaluation of the rare and endangered Tibetan medicinal plants in the Linzhi region[J]. Resour Sci, 33(12): 2362-2369. [卢杰，兰小中，罗建，2011. 林芝地区珍稀濒危藏药植物资源调查与评价[J]. 资源科学，33(12)：2362-2369.]

Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, 1991. Flora of Tibetan medicine[M]. Xining: Qinghai People's Publishing House: 294. [中国科学院西北高原生物研究所，1991. 藏药志[M]. 西宁：青海人民出版社：294.]

QU Y, OU Z, 2012. The research advancement on the genus *Meconpsis*[J]. Nor Horticul, (2): 191-194. [屈燕，区智，2012. 绿绒蒿属植物国内外研究进展[J]. 北方园艺，(2)：191-194.]

QU Y, OU Z, XIA Y, et al.，2018. Effects of different pretreatment on germination features of *Meconopsis racemosa* Maxim. seeds[J]. Seed, 37(2): 5-9. [屈燕，区智，夏樱，等，2018. 不同前处理对总状绿绒蒿种子萌发特性的影响[J]. 种子，37(2)：5-9.]

SUONAN RQ, 2017. Preliminary discussion on the current situation and suggestion of Tibetan medicine resources protection and development[J]. J Med Pharm Chin Minorities, (6): 32-33. [索南仁欠，2017. 初探藏药材资源保护发展的现状和建议[J]. 中国民族医药杂志，(6)：32-33.]

XU HH, LI N, LIU SJ, et al.，2014. Research progress in seed germination and its control[J]. Acta Agron Sin, 40(7): 1141-1156. [徐恒恒，黎妮，刘树君，等，2014. 种子萌发及其调控的研究进展[J]. 作物学报，40(7)：1141-1156.]

XU SX, TANG XH, FU JR, 1987. Study advance of seed physiology[M]. Guangzhou: Sun Yat-sen University Press: 120-122. [徐是雄，唐锡华，傅家瑞，1987. 种子生理的研究进展[M]. 广州：中山大学出版社：120-122.]

YANG CY, SHEN WS, LIN NF, 2014. Climate change and its regional differences over the Tibet Plateau[J]. Arid Land Geo, 37(2): 290-298. [杨春艳，沈渭寿，林乃峰，2014. 西藏高原气候变化及其差异性[J]. 干旱区地理，37(2)：290-298.]

ZHAO F, ZHANG HXG, BAI RF, et al.，2017. Advance of a representative traditional Tibetan medicine *Meconopsis horridula* on its phytochemical and pharmacological aspects[J]. Chin J Chin Mater Med, 42(19): 3676-3683. [赵凤，张和新歌，白睿峰，等，2017. 藏药多刺绿绒蒿的化学和药理学研究进展[J]. 中国中药杂志，42(19)：3676-3683.]

ZHENG DJ, YANG LR,YUN Y, et al.，2017. Seed dormancy mechanism and its ecological significance of endangered species *Dracaena cambodiana*[J]. Guihaia, 37(12): 1551-1559. [郑道君，杨立荣，云勇，等，2017. 濒危植物海南龙血树种子休眠机理及其生态学意义[J]. 广西植物，37(12)：1551-1559.]